

家兔棘上筋における腱切離後と修復後の脂肪変性について

著者	桑原 功行
号	84
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3376号
URL	http://hdl.handle.net/10097/61288

氏 名	くわはら よしゆき 桑原 功行
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	家兎棘上筋における腱切離後と修復後の脂肪変性について
論文審査委員	主査 教授 井樋 栄二 教授 久志本 成樹 教授 舟山 真人

論 文 内 容 要 旨

腱板断裂は中高年者の肩痛の主要な原因の一つである。広範囲な断裂により、腱板を構成する筋組織内には脂肪変性という脂肪の沈着が起こる。脂肪変性は腱板修復術の術後成績に悪影響を及ぼす因子であり、一旦生じると腱板修復後もその脂肪変性の改善はみられないという報告が多い。

腱板構成筋が脂肪変性する分子機構についての研究は多くなかった。前駆脂肪細胞が脂肪細胞へ分化する際に役割を担う、核内受容体型の転写因子 PPAR γ や、basic-leucine zipper 型転写因子 C/EBP α は、筋芽細胞株の脂肪分化でも発現する。wnt10b は wnt シグナル伝達経路を介して、PPAR γ 、C/EBP α の伝達経路を制御することが知られているが、これまでの研究で、腱板を切除すると腱板構成筋での wnt10b の発現が減少し、PPAR γ 、C/EBP α の発現が増加し、脂肪細胞が出現することがわかっている。

本研究の目的は、ウサギ棘上筋腱切離後だけでなく腱修復後に、wnt10b、PPAR γ 、C/EBP α の mRNA 発現の変化および脂肪変性との関係を調べることである。動物実験の結果から、実臨床において問題となっている、腱板構成筋の脂肪変性の可逆性と腱板修復術を行う時期についても考察する。

日本白色家兎を全身麻酔下に、棘上筋腱切離と棘上筋腱修復を行った。実験 1 では、棘上筋の摘出時期を棘上筋腱切離後 3 週 (3w)、切離後 6 週 (6w) に設定した。さらに、切離 3 週で修復した後 3 週 (3+3w)、切離 3 週で修復した後 12 週 (3+12w) で、両側の棘上筋を摘出することとした。実験 2 では、ウサギ棘上筋腱切離から棘上筋摘出までの期間を 1 週 (1w)、2 週 (2w)、3 週 (3w) とした。また、棘上筋腱切離後 1、2、3 週後で修復した後 5 週 (それぞれ 1+5w、2+5w、3+5w) で両側の棘上筋を摘出することとした。

摘出した棘上筋は遠位、中央、近位の 3 部位に分割し、さらに遠位と中央を中心部と辺縁部に分けた。遠位の棘上筋凍結切片で、Oil red-O 染色とその溶出量で脂肪定量を行った。筋組織から mRNA を抽出し、wnt10b、PPAR γ 、C/EBP α の発現を定量的 RT-PCR で解析した。実験 2 では、棘上筋の湿重量の計測と HE 染色標本作成後、筋細胞径も計測した。

実験 1 の結果 ; 3w、6w、3+3w、3+12w の棘上筋で脂肪滴がみられた。wnt10b の発現は 3w、6w では遠位を中心部と辺縁部でコントロールに比べて有意に低下し、3+3w、3+12w では遠位を中心部のみで有意に低下した。PPAR γ の発現は 3w では遠位を中心部、辺縁部で有意に増加した。3+3w の棘上筋では遠位を中心部で有意に増加し、3+12w では中心部、辺縁部のいずれでも有意に増加した。

実験2の結果; 1w、2w、3wの棘上筋の湿重量は低下し、切離後経時的に低下の度合いが大きくなる傾向がみられた。また、修復後も湿重量は低下し、腱の修復時期が遅いほど低下の度合いが大きくなる傾向がみられた。摘出した棘上筋の筋線維径は、修復後の棘上筋で有意に低下していた。脂肪定量では、3wで有意な増加がみられた。修復後は、2+5w、3+5wで有意な増加がみられた。wnt10bの発現は1w、2w、3wの棘上筋の遠位の中心部と辺縁部で有意に低下し、修復後1+5w、2+5w、3+5wの遠位の中心部で有意に低下した。PPAR γ の発現は、2w、3wの棘上筋の遠位の中心部と辺縁部で有意に増加し、2+5w、3+5wで遠位の中心部と辺縁部で有意に増加した。C/EBP α の発現は、2wの遠位中心部と辺縁部、3wの遠位中心部で有意に増加し、2+5w、3+5wでは遠位の中心部と辺縁部で有意に増加した。

wnt10bのmRNA発現は、修復後の棘上筋の遠位の中心部で有意に低下していたが、辺縁部では有意差はみられなかった。切離後は辺縁部でもwnt10bのmRNA発現は低下しており、腱の修復によってwnt10bの発現は辺縁部では回復したが、中心部では低下が持続していたと考えられた。PPAR γ 、C/EBP α が増加する前に修復したと考えられる1+5wでは、脂肪の有意な増加は見られなかった。脂肪がまだみられず、PPAR γ 、C/EBP α の発現が増加している段階で修復したと考えられる、2+5wでは脂肪が有意に増加していた。PPAR γ 、C/EBP α の変化がおこると、棘上筋腱切離後に脂肪変性が不可逆的になることが推測された。脂肪変性を防ぐためには、腱板修復術を脂肪分化転写因子が亢進していないうちに行うべきであることが示唆された。

脂肪分化の転写因子である、PPAR γ 、C/EBP α の変化がおこると、腱板構成筋の脂肪変性が不可逆的になることが推測された。wnt10bのmRNA発現の低下はPPAR γ 、C/EBP α のmRNA発現の増加に先立って起こり、棘上筋の辺縁部では修復後にその発現量が回復したが、中心部では低下が持続した。今後、臨床のサンプルを用いたこれらの遺伝子の発現解析が期待される。

審査結果の要旨

博士論文題目 家兎棘上筋における腱切離後と修復後の脂肪変性について

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 整形外科学分野

氏名 桑原 功行

研究の要旨： 腱板の広範囲な断裂により、腱板構成筋の筋組織内には脂肪変性という脂肪の沈着が起こる。脂肪分化転写因子である PPAR γ 、C/EBP α は、筋芽細胞、前駆脂肪細胞が脂肪細胞へ分化する際に役割を担う。wnt10b は、wnt シグナル伝達経路を介して、PPAR γ 、C/EBP α の伝達経路を制御する。本研究では、ウサギ棘上筋腱切離後、修復後において、wnt10b、PPAR γ 、C/EBP α の mRNA 発現の変化および脂肪変性との関係を調査した。ウサギの棘上筋腱切離を行い、腱切離から棘上筋摘出までの期間を 1 週（1w）、2 週（2w）、3 週（3w）とした。また、棘上筋腱切離後 1、2、3 週で腱修復を行った後 5 週（それぞれ 1+5w、2+5w、3+5w）で両側の棘上筋を摘出した。摘出した棘上筋は遠位、中央、近位の 3 部位に分割し、さらに遠位と中央を中心部と辺縁部に分けた。遠位の筋組織の Oil red-O 染色とその溶出量から脂肪定量を行い、遠位の中心部、辺縁部の筋組織から mRNA を抽出し、wnt10b、PPAR γ 、C/EBP α の発現を解析した。脂肪定量では、1w、2w では有意差はなく、3w で有意な増加がみられた。修復後は、2+5w、3+5w で有意な増加がみられた。wnt10b の発現は 1w、2w、3w で、遠位の中心部・辺縁部ともに有意に低下し、修復後は中心部では低下し、辺縁部は有意差がなかった。PPAR γ 、C/EBP α の発現は、2w、3w では有意に増加した。1+5w で増加はみられず、2+5w、3+5w では有意に増加した。wnt10b の変化が引き金となり、脂肪分化転写因子である PPAR γ 、C/EBP α の変化がおけると、棘上筋腱切離後に脂肪変性が不可逆になることが推測された。

斬新さ： ウサギの棘上筋腱切離後、詳細なタイムコースをとることにより、wnt10b の低下後に引き続いて起こる脂肪分化転写因子の増加が、その後の脂肪変性の不可逆性を決定している点を示したことは斬新さがある。

重要性： 筋の脂肪変性は腱板修復術の術後成績に悪影響を及ぼす因子であり、一旦生じると腱板修復後もその脂肪変性の改善はみられないという報告が多い。本研究から脂肪変性を防ぐためには、腱板修復術を脂肪分化転写因子が増加する前に行うべきであることが示唆された。

実験方法の正確性： 実験は周到に練られた計画のもとに行われ、再現性、正確性が高いと考えられる。また、得られたデータの統計処理も適切になされており、信頼性の高い研究である。

表現の明瞭さ： これまでの問題点を明確に指摘し、研究目的、方法、実験結果、考察を簡潔、明瞭に記載していると考ええる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。